



TITLE:

B-57 ニホンザルにおけるサルT細胞白血病ウイルスの動態の解析・免疫治療

AUTHOR(S):

松岡, 雅雄; 安永, 純一郎; 三浦, 未知

CITATION:

松岡, 雅雄 ...[et al]. B-57 ニホンザルにおけるサルT細胞白血病ウイルスの動態の解析・免疫治療. 霊長類研究所年報 2012, 42: 115-116

ISSUE DATE:

2012-10-04

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/171535>

RIGHT:

般に、*S. warneri*, *S. pasteurii* は真猿類において広く分布していた。ヒト上科では *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. caprae*, 新世界ザルでは *S. simiae* がそれぞれ特異的に保菌されていた。これらの結果から、霊長類と *S. aureus* グループ（上記 7 菌種）は共進化関係にあることが示唆された。

化石証拠と分子時計を基にした分岐年代推定は、細菌では化石情報がないため困難であった。本研究のブドウ球菌全 44 種の生態学的情報は、哺乳類各種の年代推定値と総合することで、ブドウ球菌属の化石証拠の代用となりうる。現在ブドウ球菌属全菌種全ゲノム塩基配列をデータセットに用いた年代推定を試みている。

B-53 チンパンジーからのヒト由来病原体の分離

郡山尚紀（日本モンキーセンター） 所内対応者：宮部貴子

霊長類研究所のチンパンジー 6 頭について、咽頭及び鼻腔の拭い液からヒト由来病原体の分離を試みた。特にヒトメタニューモウイルス（hMPV）、RS ウイルス（RSV）についてウイルス分離と病原体遺伝子の検出を行なった。その結果、ウイルスは検出されず、細菌培養でも常在菌にとどまった。また、以前から行なってきた血清学的解析を用いた人由来病原体への感染状況を調べた結果、これまでのデータと比較して特に感染率の高かった病原体の中で霊長研のチンパンジーにおける傾向をつかむことができた。その中で呼吸器系感染症を引き起こす百日咳菌、パラインフルエンザウイルス III、RSV は霊長研生まれの個体（A）と生まれてから導入された個体（B）の抗体価に優位な差は見られなかった。しかし、hMPV は A 群よりも B 群において優位に抗体価が高く、ヒトと同様に高年齢において高抗体価が確認された。また、これらのウイルスはチンパンジーにおいてもヒトと同様にウイルスが伝播したのち、免疫を獲得できた可能性も示している。

B-54 霊長類ヘルペスウイルスに関する研究

光永総子、中村伸（NPO プライメイト・アゴラ・バイオメディカル研究所） 所内対応者：明里宏文

サル B ウイルス（BV）はマカクザルを自然宿主とするアルファヘルペスウイルスで、ヒトに感染した場合は抗ウイルス治療を施さないと重篤な中枢神経系障害を引き起こすことがあります。BV を含む霊長類アルファヘルペスウイルスは抗原交差性があるため、マカクザルを用いる実験動物施設では BV 特異的抗体検査が不可欠となります。私たちは、BV 特異的ペプチド（BV-gD CP）を Covalink にカップリングさせ、効果的なブロッキングを検討するなどして、高感度な BV 特異的ペプチド ELISA 法を確立し、その応用を図っています。

今回、京都大学霊長類研究所より供与されたマカクザル血液サンプルを含む BV 陽性個体サンプルについて、抗 BV-gD CP 抗体検出頻度を検討しました。また、ヒト感染での検出を想定し、ヒト単純ヘルペスウイルス（HSV）陽性ヒト血漿サンプルに、微量の BV 陽性マカクザル血漿サンプルを加え、抗 BV-gD CP 抗体検出を試みました。

BV 陽性マカク血液サンプルにおける抗 BV-gD CP 抗体陽性率は種、産地によって異なり 65% から 93% という結果が得られました。また、HSV 陽性ヒト血漿中に 0.5% の割合で BV 陽性マカクザル血漿が含まれれば、抗 BV-gD CP 抗体が検出できることが明らかになりました。

B-56 ゴリラにおける筋骨格系に関する研究

大石元治（日獣・獣医）、荻原直道（慶應大・理工）、菊池泰弘（佐賀大・医）、小薮大輔（京大・博物館） 所内対応者：江木直子

大型類人猿における四肢運動機能を研究する一環として、ニシローランドゴリラ（1 個体、雄）の前肢筋の発達（＝筋の質量）と、発揮筋力（＝筋の生理学的断面積 PCSA）に着目し、屍体の解剖を行った。ゴリラは、アジアの大型類人猿であるオランウータンに比べ地上傾向が強く、チンパンジーやボノボなどの他のアフリカ類人猿のロコモーションに類似している。これらのロコモーションの差異は、前肢筋の発達や発揮筋力に影響を与えることが予測される。本研究では、各筋の筋質量と PCSA を、それぞれの前肢筋の総和で割ることにより、各値の比率を算出し、これまでに得られているオランウータンのデータと比較を行った。肘関節に関係する筋群のうち、伸筋群（上腕三頭筋、肘筋、背骨車上筋）は地上性ロコモーション時に体重を支持し、屈筋群（腕橈骨筋、上腕筋、上腕二頭筋）は樹上生ロコモーション時に推進力を生むのに重要な役割を果たしている。本研究における結果は、筋群とロコモーションの違いを反映しており、ゴリラでは肘関節の伸筋群が、オランウータンでは肘関節の屈筋群がそれぞれより発達しており、大きな筋力を発揮できるものと推測された。しかし、屈筋群のなかでも二関節筋である上腕二頭筋がオランウータンよりもゴリラにおいて相対的に大きな筋質量と PCSA を持っていた。今後、類人猿を解剖する機会があれば、標本数を増やし、今回認められた差異が、ロコモーションの差異を反映しているかをさらに検討していきたい。

B-57 ニホンザルにおけるサル T 細胞白血病ウイルスの動態の解析・免疫治療

松岡雅雄、安永純一郎、三浦未知（京都大・ウイルス研） 所内対応者：明里宏文

最初に霊長類研究所のニホンザルにおける STLV-1 抗体陽性率を検討した。検体採取は、入所中ニホンザルの定期採血の際に、同時に STLV-1 抗体検査用の採血を施行し、血漿と単核球（PBMC）を分離した。さらに、以前に分離され凍結保存されていた血漿も抗体検査に供した。PA 法によるスクリーニングの結果、霊長類研究所内のニホンザル 374 頭中 178 頭（48%）に STLV-1 感染が判明した。対照として解析したアカゲザルにおいては、132 頭中 1 頭（0.8%）と低値であり、種により感染率に大きな差が存在する事が明らかとなった。プロウイルス量を Real-time PCR 法にて定量したところ、感染細胞率は 0.001% から 17% と大きな個体差を認めた。フローサイトメトリーによる解析では、CD4 陽性 T リンパ球優位に STLV-1 が感染していることが示唆された。STLV-1 由来の Tax

および HBZ 遺伝子をサブクローニングし、これらの活性に関して分子生物学的な解析を開始した。STLV-1 由来の Tax は AP-1、古典的 NF- κ B、Wnt 経路を活性化し、HBZ は各々を抑制した。一方、TGF- β シグナルに関しては STLV-1 Tax は抑制し、HBZ は活性化した。これらの所見は HTLV-1 と極めて類似している。ニホンザルは、ウイルス動態の詳細な解析に非常に有望な霊長類モデルであると言える。

B-58 ヒト成人・胎児およびサル側頭骨における形態学的検討と上半規管裂隙症候群の病因に関する仮説の検証
高橋直人、角田篤信、喜多村健（東京医科歯科大・耳鼻咽喉科） 所内対応者：西村剛

上半規管裂隙症候群の病因を探るため、ヒト胎児・成人およびサル（チンパンジー、テナガザル、ニホンザル）の側頭骨形態につき、CT 画像による比較を行った。ヒト成人では中頭蓋底と上半規管はほぼ接しており、胎児期には上半規管は頭蓋内に大きく突出していた。一方、今回撮影を行ったサルでは、上半規管上方に含気蜂巣の発達が見られ、中頭蓋底と上半規管は離れていた。ヒトにおける脳と内耳の近接が、上半規管裂隙の成因に関与する可能性が示唆された。

<学会発表>

Collegium Oto-Rhino-Laryngologicum Amicitiae Sacrum (September 2011, Belgium)

<発表概要>

上半規管裂隙症候群は比較的新しい疾患概念であり、近年、病態生理学的なアプローチでの解明は進んでいるが、病因に関しては未だ定説は確立していない。胎生早期に骨化が完了する内耳において骨欠損が生じるメカニズムを解明するため、ヒト胎児・成人およびサルについて側頭骨 CT を撮影し、形態学的検討を行い考察を加えた。ヒト胎児（胎生 16 週、26 週、26 週、28 週）では、中頭蓋底において明らかな内耳の上方突出が見られ、CT 断面では上半規管が最も上方へ位置し硬膜と接するように存在していた。ヒト成人においても上半規管上部と中頭蓋底は接するような位置関係であった。一方、チンパンジー 4 体、テナガザル 4 体、ニホンザル 4 体について同様の検討を行ったところ、半規管上方には含気蜂巣の発育が見られ、中頭蓋底と内耳は空間的に離れた位置関係にあった。また、ヒトとサルの冠状断を比較したところ、ヒトの方が中頭蓋底の側方への傾斜が小さく、側頭葉が中頭蓋底を押し下げるような形状をしていた。ヒトにおけるこれらの形態学的特徴によって胎生期に内耳迷路と硬膜の接触が生じ、骨化が妨げられることにより半規管裂隙が形成される可能性があると考えた。また、ヒトにおいて形態学的差異が生じる要因として、大脳容積率の増加、ミオシン変異による側頭筋量の減少、上半規管径の相対的な増大が考えられるとの考察を加えた。

B-59 マカクを用いた新規歯髄再生療法の確立

筒井健夫、鳥居大祐（日本歯大・生命歯学部・薬理） 所内対応者：鈴木樹理

平成 23 年度は、ニホンザル 1 例（10 歳）とアカゲザル 1 例（11 歳）の下顎骨の採取後、ニホンザルにおいては下顎右側第二小臼歯と下顎左側第一大臼歯の薄切切片を作成しヘマトキシリン・エオジン染色（H-E 染色）を行い、アカゲザルは下顎右側第二小臼歯と下顎右側第一大臼歯における H-E 染色を行った。また混合歯列期であるアカゲザル 1 例（3 歳）より上顎右側中切歯、上顎右側側切歯、上顎右側埋伏犬歯、上顎右側乳犬歯、上顎右側第一大臼歯、下顎右側中切歯、下顎右側第二乳臼歯、下顎右側第一大臼歯の歯髄細胞を採取し初代培養を行った。H-E 染色を行ったニホンザルとアカゲザルの全ての臼歯で、象牙質、歯髄、象牙芽細胞層、神経、血管を確認することができた。また、この結果よりニホンザルとアカゲザルの歯髄組織はヒトと類似していることが観察された。初代培養は、混合歯列期のアカゲザルの 8 本の歯より歯髄細胞を採取し行った。また上顎右側第一大臼歯由来細胞ではコロニー形成率の解析を行い、 1×10^4 個の細胞を 100 mm シャーレ 4 枚に播種し平均 3 つのコロニーが形成された。今後はこれら細胞を用いて、*in vitro* 解析では細胞増殖を、*in vivo* 解析では皮下移植などを行い、マカク由来の歯髄細胞の細胞特性を分子生物学的に解析する。

B-60 霊長類の網膜黄斑に特異的に発現する遺伝子群の同定

古川貴久、佐貫理佳子、荒木章之（（財）大阪バイオサイエンス研究所） 所内対応者：大石高生

ヒトを含めた霊長類の網膜は中心部に黄斑という錐体細胞の密度が高く、視力に重要な構造を持つ。我々は、黄斑発生に関わる遺伝子群の同定を目的として、周産期アカゲザルの網膜を黄斑部と周辺部に分けて採取し、それぞれの総 RNA についてマイクロアレイを用いて遺伝子発現を比較した。そこで得られた候補遺伝子の中でも特に SREBP2 に着目している。SREBP2 は脂質代謝に関わる遺伝子群の発現を制御する転写因子であり、*in situ* ハイブリダイゼーションによってマウス網膜においても発生期視細胞に発現を認める。昨年に引き続き、SREBP2 の視細胞におけるドミナントネガティブ変異体につき解析中である。

B-61 サル類における腎結石の疫学研究と自然発症モデルの探索

濱本周造、郡健二郎、戸澤啓一、安井孝周、岡田淳志、田口和己、廣瀬泰彦（名市大・腎泌尿器科学） 所内対応者：鈴木樹理

昨年は、東日本大震災にかかわる復興医療支援者として現地で活動していたこともあり、研究進捗が遅れている。同時に平行して行ったマウスでの成果報告を行う。

結石の構成成分の 1 つであるオステオポンチン（OPN）は、トロンピンにて切断される機能的アミノ酸配列がある。本研究では同部位のアミノ酸配列（SLAYGLR）に対する中和抗体を作成し、OPN 抗体の腎結石形成に与える影響を検討した。OPN の SLAYGLR 配列を含むペプチドを用い、モノクローナル抗体（35B6 抗体）を作成し、8